

**Estrategias de conservación *in situ* de los recursos genéticos a fin de aprovechar la diversidad genética de los centros de origen ; un caso de estudio : las leguminosas del género *Phaseolus***

**Jean-Pierre BAUDOUIN**

**Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique)**

**Introducción**

Los recursos genéticos vegetales tienen mucha importancia para desarrollar una agricultura de alto rendimiento pero también una agricultura sostenible y estable. Actualmente, una gran preocupación, particularmente en los países en vía de desarrollo, es de producir en el campo suficientes cantidades de alimentos básicos pero al mismo tiempo asegurar el equilibrio del ambiente ecológico. Esto es necesario para garantizar que la agricultura se sustenta.

El logro de este tipo de agricultura exige una explotación adecuada del potencial genético existente, es decir la biodiversidad presente en las especies estudiadas. La variabilidad genética contenida en los recursos vegetales puede ofrecer genes útiles para incorporar en las plantas cultivadas rusticidad, resistencia a enfermedades y insectos, tolerancia a la sequía, al frío y al calor, mejor calidad nutricional de los productos consumidos .

Desafortunadamente la presión demográfica y las actividades generadas por los seres humanos han modificado considerablemente el ambiente y han causado la pérdida de una gran parte de la variabilidad genética de las especies que le han servido para su sustento y bienestar material. Este proceso de desaparición de la diversidad genética es parte del fenómeno llamado “erosión genética”, la cual resultan de muchos factores bien conocidos : urbanización, industrialización, agricultura monocultiva intensiva, sobrepastoreo, deforestación, contaminación del suelo, desplazamiento de las variedades tradicionales por las variedades modernas, de muy estrecha plasticidad genética.

Es urgente establecer programa de conservación y de evaluación de los recursos genéticos de las plantas, incluyendo diferentes grupos de materiales, como silvestres ancestrales, y especies domesticadas o cultivadas particularmente en forma de razas nativas o variedades tradicionales. Lo importante es tratar de coleccionar y conservar todo el espectro de variabilidad genética que se ha producido durante la domesticación de las especies y también durante el proceso evolutivo de especiación. Existen dos métodos para conservar el germoplasma :

-*In situ*, el cual sugiera tratar de conservar las especies y su variabilidad en el hábitat natural de ellas sin perturbar su dinámica;

-*Ex situ*, el cual intenta conservar la variabilidad de las especies fuera de su hábitat natural, es decir en bancos de germoplasma.

Cualquiera que sea el tipo de conservación de los recursos genéticos, es importante estudiar para cada especie la organización evolutiva, la estructura y diversidad genéticas a diferentes niveles : género, especie y población. Es un requerimiento a fin de aprovechar el beneficio y la complementariedad de los dos tipos de conservación.

A través un caso de estudio concerniente el género *Phaseolus*, algunos principios y recomendaciones son ilustradas con el objetivo de aprovechar la diversidad genética y su potencial evolutivo.

**Organización evolutiva y genética de *Phaseolus* y *P. lunatus*.**

## Esquema de la organización

Las leguminosas de grano son una fuente importante y económica de proteína en la dieta de muchos pueblos tropicales y se usan como suplemento de alimentos ricos en carbohidratos como los cereales, raíces y tubérculos. Dentro de la familia de las leguminosas se encuentra el género *Phaseolus*, incluyendo aproximadamente 150 especies, todas originarias de América Latina. Las principales evidencias del origen neotropical de *Phaseolus* son la diversidad genética de los materiales que existen en este continente y los hallazgos arqueológicos que prueba la antigüedad de su cultivo, particularmente en Perú y México. Dentro del género, cinco especies fueron domesticadas : *P. vulgaris* (la mas difundida y de mayor aceptación), *P. lunatus*, *P. coccineus*, *P. polyanthus* y *P. acutifolius* (BAUDOIN, 1991).

Concerniente *P. lunatus*, llamado comúnmente frijol de Lima, el caso de nuestro estudio, existen dos principales acervos genéticos domesticados a partir de dos formas silvestres distintas y con morfotipos de semilla diferente (BAUDOIN, 1991; MAQUET *et al*, 1997) :

- el acervo mesoamericano, constituido por materiales de semilla pequeña, aplanada o redonda, distribuido a través del continente desde México hasta Argentina;
- el acervo andino, constituido por materiales de semilla grande, a menudo arriñonada y aplanada, distribuido en los Andes (principalmente Perú, Ecuador y Colombia).

La identificación de los dos acervos fue confirmada a través la utilización de marcadores bioquímicos y moleculares (FOFANA *et al*, 1997; MAQUET *et al*, 1997).

En el caso del frijol de Lima, existe una gran variación en cuanto a la forma, el tamaño y color de las semillas (BAUDOIN, 1991; MAQUET & BAUDOIN, 1997). Dentro de los materiales cultivados, los tipos de semillas más grandes se denominan Limas grandes o pallares (big Lima) y se originaron del Perú; las de tipo sieva son de tamaño intermedio y posiblemente originarias de México; las de tipo papa son las más pequeñas y tienen su mayor distribución en las Antillas (Caribe).

Los materiales de semilla grande fueron cultivados por la primera vez en la costa del Perú hace 5000 años, donde tenían gran valor alimenticio y cultural. La distribución de la forma ancestral silvestre permite sugerir una domesticación en esta zona y su distribución ulterior tanto hacia las partes altas de los Andes (Ecuador, Perú, Colombia y Bolivia), como hacia la costa peruana (BAUDOIN, 1991).

Los cultivares de semilla pequeña han sido domesticados a partir de una forma silvestre, posiblemente en Mesoamérica y en épocas más recientes (MAQUET & BAUDOIN, 1997).

La variabilidad intraespecífica de *P. lunatus* es importante particularmente en los grupos de variedades sieva y Limas grandes. El frijol de Lima tiene también acervos secundario y tercero, ubicados en América Central y en los Andes. Estos acervos son particularmente amplios entre las especies cultivadas del género. Se debe destacar tres parientes de la forma silvestre andina, recientemente identificados : *P. augusti*, *P. bolivianus* y *P. pachyrrhizoides* (BAUDOIN, 1991; FOFANA *et al*, 1999)

## Implicaciones para la conservación y el mejoramiento.

En frijol de Lima, como en otros frijoles *Phaseolus*, durante el proceso de evolución bajo cultivo ocurrieron cambios mayores al nivel morfológico y fisiológico. El fenotipo de las plantas cultivadas se apartó mucho de la de las plantas silvestres. Las varias formas domesticadas presentan un grado de diversidad morfológica mas amplio que las formas

silvestres. Esta diversidad refleja la diversidad cultural de las sociedades humanas que han cultivado el frijol.

Al otro lado, si se compara el nivel de variabilidad genética entre las formas silvestres y las cultivadas a través de los marcadores bioquímicos y moleculares, la domesticación representa una reducción notoria en diversidad genética.

Se puede explicar esta paradoja. Los caracteres morfológicos y fisiológicos tienen un efecto notable en el fenotipo de la planta mientras que los caracteres bioquímicos y moleculares sólo pueden evaluarse mediante técnicas especiales. Por ese efecto ostensible en la planta, los caracteres morfológicos han servido al campesino para seleccionar variantes (color y tamaño de la semilla, hábito de crecimiento, etc.). En cambio, las características bioquímicas y moleculares no ejercen generalmente un efecto manifiesto en la planta y por ello no han estado sujetas a selección.

Las consecuencias de la evolución del frijol de Lima para los recursos genéticos y el mejoramiento son las siguientes :

- la divergencia entre los grupos mesoamericano y andino exige que el germoplasma de ambas regiones deba preservarse con igual prioridad;
- la reducción de la variabilidad genética a causa de la domesticación indica que debe ponerse más énfasis en la conservación de las formas ancestrales silvestres;
- la reducción de la variabilidad genética durante el proceso de domesticación indica que se deben evaluar las formas silvestres más detenidamente y desarrollar métodos de mejoramiento que transfieran características de las formas silvestres hacia las formas cultivadas;
- la divergencia entre los acervos mesoamericano y andino tiene efectos directamente sobre los programas de mejoramiento genético : se necesitan en algunos casos dos programas de mejoramiento separados o en otros casos se deben desarrollar técnicas de mejoramiento que transfieran características de un grupo al otro. La decisión depende en parte del beneficio obtenido de las formas recombinantes y de la facilidad de transferencia de características útiles de un grupo a otro.

Existen numerosos bancos de germoplasma para la conservación *ex situ* de *P. lunatus* y sus acervos, principalmente en Pullman, Estados Unidos (USDA), Chapingo, México (INIFAP) y Palmira, Colombia (CIAT).

Se ha recolectado germoplasma para rescatar material tradicional cultivado en varias regiones del trópico, donde la desaparición de variedades ha sido rápida (BAUDOIN, 1991; MAQUET & BAUDOIN, 1997). Si se podrían aún recolectar con provecho en ciertas partes de América Latina (como Yucatán, norte de Colombia, Perú y Paraguay), la situación es mas critica con los materiales silvestres por las cuales faltan muchas regiones por muestrear (por ejemplo en México, El Salvador, Nicaragua, Panamá, Venezuela y el oriente de Bolivia). Además la conservación *ex situ* de las formas silvestres de *P. lunatus* no garantiza la integridad genética de cada entrada debido al desconocimiento de la biología floral y de la adaptación ecológica de una gran parte del germoplasma. En consecuencia se necesita un estudio de las poblaciones silvestres mantenidas *in situ* en los centros de diversidad y origen.

### **Estrategias para la conservación *in situ* de poblaciones silvestres de *P. Lunatus***

La preservación *in situ* se realiza en general mediante areas protegidas. Estos areas han sido seleccionados por su importancia como reservorios de recursos genéticos útiles y como representantes de las regiones de diversidad de la especie estudiada. Se recomienda también

mantener la integridad genética de las poblaciones *in situ* en su estado natural sin perturbar demasiado los ecosistemas existentes. Esto permite continuar la evolución de los materiales vegetales en su ambiente normal. Con este enfoque se preserva una base genética amplia que favorece los procesos evolutivos de selección natural, radiación adaptativa y mantenimiento de la variabilidad genética. Además de esas ventajas, la conservación *in situ* asegura el equilibrio entre los medios ambientales y artificiales (agrosistema) y ayuda la conservación *ex situ*, debido a un mejor conocimiento de la dinámica de cada población, de su ciclo biológico y de su sistema de reproducción (VANDERBORGH & BAUDOUIN, 1998).

Hay diferentes principios que deben estar seguidos para obtener ganancia en un programa de conservación *in situ* :

- controlar la dinámica de las poblaciones vegetales, lo que supone el conocimiento de la estructura genética, de la fenología, demografía y sistema de reproducción;
- manejar el medio ambiente y los ecosistemas donde se encuentra la diversidad de las plantas;
- desarrollar planes de manejo de los territorios, en este se debe controlar las actividades humanas y también el crecimiento de las vegetaciones espontáneas que puede estar desfavorables sobre los recursos.

Un proyecto de conservación *in situ* entre la Universidad de Costa Rica y la Facultad de Ciencias Agrícolas de Gembloux (Bélgica) ha sido elaborado en el Valle Central de Costa Rica, una región de diversidad de frijol de Lima silvestre, caracterizada por una alta densidad humana, una creciente urbanización y industrialización, el desplazamiento de una agricultura tradicional por una agricultura intensa (por ejemplo plantaciones monocultivas de cafetales y de caña de azúcar) y sobrepastoreo (ROCHA *et al*, 1997). El objetivo de la investigación es de preservar la variabilidad genética de *P. lunatus* en el Valle donde se encuentran solamente numerosas poblaciones silvestres ancestrales del acervo genético mesoamericano (BAUDOUIN *et al*, 1998). Son plantas heliófitas, volubles, de crecimiento indeterminado, de ciclo plurianual (debido a un sistema radicular muy bien desarrollado y a una capacidad de retoñar a partir de la parte inferior del tallo) y de una biología floral mezclando autogamia y alogamia (la polinización cruzada puede llegar a superar el 30 por ciento). En las poblaciones silvestres, la dispersión de la semilla se produce por dehiscencia explosiva de las vainas.

La región se caracteriza por precipitaciones anuales promedios entre 1200 y 2000 mm, con una estación seca de 4 a 5 meses. Las poblaciones de este lugar están ubicadas en alturas variando entre 500 hasta 1800 m, en sitios abiertos y perturbados, a lo largo de caminos o dentro de plantaciones tradicionales de cafetales, creciendo sobre árboles (como *Erythrina* y *euphorbe*). Cabe mencionar que es una especie generalmente rústica, que prefiere climas secos y suelos profundos (pH 6,0-7,2) con buen drenaje.

### **Objetivos y metodología de trabajo**

A largo plazo, el objetivo es de determinar una estrategia para la conservación *in situ* de la variabilidad genética de las poblaciones silvestres del Valle Central de Costa Rica. A mediano plazo, el objetivo es de estudiar y determinar los factores controlando la dinámica de las poblaciones y integrar esos factores en el desarrollo de un programa de preservación *in situ* de la leguminosa. A corto plazo hemos definido una metodología de trabajo que comprende los componentes siguientes :

- evaluar la diversidad genética total en el Valle, utilizando características morfológicas, bioquímicas y moleculares;

- determinar la estructura genética entre y dentro de poblaciones, mediante isoenzimas y DNA;
- establecer la relación entre la estructura genética y la diversidad ecológica en el Valle;
- estudiar el flujo de genes entre individuos de la misma población o de poblaciones diferentes;
- caracterizar el heterozygocita, la cual resulta del sistema de reproducción de las plantas y permite la plasticidad de las poblaciones;
- determinar la fenología de cada población, analizando la relación entre el estado de desarrollo y el ambiente (clima, suelo y vegetación);
- estudiar la demografía de poblaciones representativas, a través la variabilidad y latencia de las semillas, mortalidad y edad de las plantas, desarrollo y ciclo vital de cada individuo, fertilidad y producción de granos, dinámica del banco de semillas en el suelo;
- desarrollar un modelo de simulación de la dinámica de las poblaciones;
- diseñar un manejo eficiente de los materiales silvestres en áreas protegidas.

## **Resultados**

Los resultados permiten diseñar microreservas con el fin de preservar algunas poblaciones representativas del Valle. Los datos fueron publicados en revistas y libros (MAQUET *et al* , 1996; DEGREEF *et al*, 1997; HARDY *et al*, 1997; ZORO *et al*, 1997 a y b ; BAUDOIN *et al*, 1998; ZORO *et al*, 1998; ZORO *et al*, 1999).

Una de los factores mas importantes que determina la extensión de la estructura genética dentro de las poblaciones silvestres es el flujo de genes. Es también un parámetro esencial para definir las estrategias óptimas de toma de muestras a fines de conservación. La dispersión de genes depende de la eficacia de la dispersión de semillas, polen y flores (a través del crecimiento vegetativo). En el seno de algunas poblaciones de frijol de Lima en el Valle Central, hicimos una estimación de la dispersión de semillas, de flores y polen estudiando el comportamiento forrajeador de los polinizadores (principalmente abejas) y empleando una técnica para etiquetar y rastrear los granos de polen *in vivo* y semillas. Según el modelo Wright de aislamiento por distancias, llegamos a la conclusión de que la dispersión de genes era la suficientemente limitado como para esperar que se diera una diferenciación genética local. De un análisis de la estructura genética real de esas poblaciones, basado en un polimorfismo allozimico, se desprendía que en la estructura genética influían mucho los casos frecuentes de colonización - extinción que se daban en dicho Valle, de suerte que dependía tanto de parámetros demográficos como de la dispersión de genes. El análisis de los casos de dispersión de genes es también útil para las estrategias de muestreo; cuando es limitada la dispersión de polen y semillas, es importante recoger muestras sistemáticamente en distintas partes de una población.

La dinámica de las poblaciones silvestres fue seguida durante varios años consecutivos. Los resultados muestran que, para una localidad dada, las poblaciones están sujetas a extinción, recolonización y a eventos de expansión y fragmentación. Cerca del 30% de las poblaciones desaparecen cada año, y el riesgo de desaparición es similar de un año al siguiente. Los principales factores que causan la extinción local de las poblaciones silvestres son el desarrollo urbanístico y las prácticas agrícolas para el control de malezas.

A partir del estudio de la demografía, podemos poner en evidencia la importancia del banco de las semillas en el suelo para asegurar la sobrevivencia de la población silvestre y su plasticidad genética. Mediante el establecimiento de la esquema del ciclo vital de las plantas, las etapas mas importantes del crecimiento fueron identificadas a fin de preservar la

diversidad genética y el tamaño de cada población, cualquiera sea el tipo de medio ambiental (aislado o perturbado). Estos resultados ayudan directamente a diseñar un manejo de las poblaciones *in situ*. La estrategia de preservación *in situ* consta con dos vías: mantener poblaciones silvestres en áreas protegidas y representativas de la diversidad ecológica del valle o desplazar poblaciones del frijol de Lima en microreservas protegidas y también cubriendo la diversidad ecológica del valle. En cada microreserva, hemos utilizado diferentes diseños de microreservas en las cuales están mantenidas poblaciones distintas o sintéticas (una mezcla de poblaciones representativas del Valle).

### **Conclusión y perspectivas**

Manejar recursos fitogenéticos no es un proceso sencillo, sino que es un trabajo multidisciplinario, sistemático y de mucho esfuerzo. Las investigaciones requieren estudios paralelos en ecología, genética molecular y de poblaciones, biología vegetal, simulación informática y manejo de los recursos genéticos. Una pregunta más importante es de determinar cuántas poblaciones representan la variabilidad genética de la especie estudiada – en nuestro caso, *P. lunatus* – con sus alelos comunes y raros.

En muchos países lamentablemente los mecanismos para la implementación de estrategias de conservación no han funcionado por falta de recursos, particularmente la preservación *in situ*. Con los procesos de intervención humana en las áreas protegidas (urbanización, colonización agrícola, sobrepastoreo, explotación maderera) se está afectando seriamente a los recursos genéticos nativos de conservación *in situ*.

### **Bibliografía**

- BAUDOIN J.P. [1991] - La culture et l'amélioration de la légumineuse alimentaire *Phaseolus lunatus* L. en zones tropicales. CTA (Centre Technique de Coopération Agricole et Rurale, Ede, Pays-Bas) y FSAGx (Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique) : 209 pp.
- MAQUET A., ZORO BI I., ROCHA O.J., BAUDOIN J.P. [1996] - Case studies on breeding systems and its consequences for germplasm conservation. 1. Isoenzyme diversity in wild Lima bean populations in central Costa Rica. Genetic Resources and Crop Evolution 43 : 309-318.
- BAUDOIN J.P., CAMARENA F., LOBO M. [1997] - Improving *Phaseolus* genotypes for multiple cropping systems. Euphytica 96: 115-123.
- DEGREEF J., BAUDOIN J.P., ROCHA O.J. (1997) - Case studies on breeding systems and its consequences for germplasm conservation. 2. Demography of wild Lima bean populations in the Central Valley of Costa Rica. Genetic Resources and Crop Evolution 44: 429-438.
- FOFANA B., VEKEMANS X., du JARDIN P., BAUDOIN J.P. [1997] - Genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as revealed by RAPD markers. Euphytica 95 : 157-165.
- HARDY O., DUBOIS S., ZORO BI I., BAUDOIN J.P. [1997] - Gene dispersal and its consequences on the general structure of wild Lima bean (*Phaseolus lunatus*) populations in Costa Rica. FAO/IPGRI. Plant Genetic Resources Newsletter 109 : 1-6.

- MAQUET A., BAUDOUIN J.P. [1997]- Etude phytogéographique de la légumineuse alimentaire *Phaseolus lunatus* L. sur le continent américain. Belg.Journ.Bot.130(1): 93-116.
- MAQUET A., ZORO BI I., DELVAUX M., WATHELET B., BAUDOUIN J.P. (1997) - Genetic structure of a Lima bean base collection using allozyme markers. Theor.Appl.Genet.95: 980-991.
- ROCHA O.J., MACAYA G., BAUDOUIN J.P. [1997] - Causes of local extinction and recolonization, determined by 3 years of monitoring wild populations of *Phaseolus lunatus* L. in the Central Valley of Costa Rica. FAO/IPGRI. Plant Genetic Resources Newsletter 112 : 44-48.
- ZORO BI I., MAQUET A. & BAUDOUIN J.P. [1997 a] - Spatial patterns of allozyme variants within three wild *Phaseolus lunatus* L. populations from the Central Valley of Costa Rica. Belg.Journ.Bot.130(2) : 149-155.
- ZORO BI I., MAQUET A., WATHELET B., BAUDOUIN J.P. [1997 b] - Genetic control of alcohol dehydrogenase, malate dehydrogenase, and phosphoglucosmutase isozymes in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). Plant Breeding 116: 181-185.
- BAUDOUIN J.P., DEGREEF J., HARDY O., JANARD F., MAQUET A., ZORO BI I. [1998]- Development of an *in situ* conservation strategy for wild Lima bean populations in the Central Valley of Costa Rica. In : Reproductive Biology in Systematics, Conservation and Economic Botany. An International Conference at the Royal Botanic Gardens, Kew, 1-5 September 1996 (U.K.) : 417-426
- VANDERBORGHT T., BAUDOUIN J.P. [1998] - La collection de base des espèces sauvages de *Phaseolus* et *Vigna* : historique, gestion et conservation. Biotechnol., Agron., Soc., Environ. 2(1): 27-35.
- ZORO BI I., MAQUET, A., DEGREEF J., WATHELET B., BAUDOUIN J.P. [1998] - Sample size for collecting seeds in germplasm conservation : case of the Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). Theor.Appl.Genet. 97: 187-194.
- FOFANA B. , BAUDOUIN J.P., VEKEMANS X., DEBOUCK D.G., du JARDIN P. [1999] – Molecular evidence for an Andean origin and a secondary gene pool for the Lima bean (*Phaseolus lunatus*) using chloroplast DNA. Theor. Appl. Genet. 98 : 202-212.
- ZORO BI I., MAQUET A., WATHELET B., BAUDOUIN J.P. [1999] - Genetic control of isozymes in the primary gene pool *Phaseolus lunatus* L. Biotechnol., Agron., Soc., Environ. 3(1) : 10-27.